

ICS 67.040
X 80

Q/HNHY

海南食品安全企业标准

Q/HNHY 0194S—2024

胶原蛋白活性二肽

2024-09-10 发布

2024-10-25 实施

海南华研胶原科技股份有限公司 发布

前 言

本标准按照《中华人民共和国食品安全法》和 GB/T 1.1《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本标准附录 A 为规范性附录。

本标准由海南华研胶原蛋白科技股份有限公司提出。

本标准由海南华研胶原蛋白科技股份有限公司起草。

本标准主要起草人：赵子方、符策雷、王争光、李小青、李艳芳、齐新原。

本标准为首次发布。

胶原蛋白活性二肽

1 范围

本标准规定的技术要求、食品添加剂、生产加工过程中的卫生要求，检验规则以及标签、标志、包装、运输、贮存和保质期的要求。

本标准适用于以鱼鳞为原料，以蛋白酶为加工助剂，经前处理、酶解、离心分离或过滤、浓缩、干燥、粉碎或不粉碎、过筛或不过筛、包装等生产工艺制成的含羟脯氨酸二肽（186-298Da）含量大于 1.0，可用于食品工业原料用或消费者直接食用的胶原蛋白活性二肽的生产控制、检验和贮运等环节。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有修改单）适用于本文件。

- GB/T 191 包装储运图示标志
- GB 1886.174 食品安全国家标准 食品添加剂 食品工业用酶制剂
- GB 2760 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准
- GB 2733 食品安全国家标准 鲜、冻动物性水产品
- GB 4789.1 食品安全国家标准 食品微生物学检验 总则
- GB 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定
- GB 4789.3 食品安全国家标准 食品卫生微生物学检验 大肠菌群计数
- GB 4789.4 食品安全国家标准 食品卫生微生物学检验 沙门氏菌检验
- GB 4789.10 食品安全国家标准 食品卫生微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验
- GB 4789.15 食品安全国家标准 食品卫生微生物学检验 霉菌和酵母计数
- GB 4789.25 食品安全国家标准 食品 微生物学检验 酒类、饮料、冷冻饮品采样和检样处理
- GB 4806.7 食品安全国家标准 食品接触用塑料材料及制品
- GB 5009.3 食品安全国家标准 食品中水分的测定
- GB 5009.4 食品安全国家标准 食品中灰分的测定
- GB 5009.5 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定
- GB 5009.11 食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定
- GB 5009.12 食品安全国家标准 食品中铅的测定
- GB 5009.15 食品安全国家标准 食品中镉的测定
- GB 5009.17 食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定
- GB 5009.123 食品安全国家标准 食品中铬的测定
- GB 5749 生活饮用水卫生标准
- GB/T 6543 运输包装用单瓦楞纸箱和双瓦楞纸箱
- GB 7718 食品安全国家标准 预包装食品标签通则
- GB 14881 食品安全国家标准 食品生产通用卫生规范
- GB 23350 限制商品过度包装要求 食品和化妆品

GB 28050 食品安全国家标准 预包装食品营养标签通则
 GB/T 28118 食品包装用塑料与铝箔复合膜、袋
 GB 31645 食品安全国家标准 胶原蛋白肽
 JJF 1070 定量包装商品净含量计量检验规则
 国家市场监督管理总局令第70号《定量包装商品计量监督管理办法》

3 技术要求

3.1 原料和加工助剂要求

- 3.1.1 鱼鳞：应符合 GB 2733 要求。
 3.1.2 蛋白酶：为 GB2760 规定的酶制剂，应符合 GB 1886.174 的要求。
 3.1.3 水：应符合 GB 5749 要求。

3.2 感官要求

应符合表1的要求。

表1 感官要求

项 目	要 求	检验方法
色 泽	白色至黄棕色	取 5g 试样置于洁净的烧杯中，在自然光线下用肉眼观察其色泽和状态，用 200mL 水配制成 1% 溶液，观察有无沉淀，闻其气味，用温开水漱口，品其滋味
状 态	粉末状或颗粒状，无结块，无正常视力可见的外来异物	
滋味与气味	具有产品应有的滋味和气味，无异味、无异嗅	

3.3 理化指标

应符合表2的规定。

表2 理化指标

项 目	指 标	检验方法
水分, g/100g	≤ 7.0	GB 5009.3
灰分, g/100g	≤ 7.0	GB 5009.4
总氮(以干基计), g/100g	≥ 15.0	GB 5009.5
相对分子质量小于10000的胶原蛋白肽所占比例, %	≥ 90.0	GB 31645 附录A
含羟脯氨酸二肽, g/100g	≥ 1.0	按附录A规定方法执行
铅(以Pb计), mg/kg	≤ 0.9	GB 5009.12
镉(以Cd计), mg/kg	≤ 0.1	GB 5009.15
总砷(以As计), mg/kg	≤ 1.0	GB 5009.11
总汞(以Hg计), mg/kg	≤ 0.1	GB 5009.17
铬(以Cr计), mg/kg	≤ 2.0	GB 5009.123

3.4 微生物限量

- 3.4.1 食品原料用产品应符合表3要求。

表 3 微生物限量

项 目	采样方案及限量（若非指定，均以/25g表示）				检验方法
	n	c	m	M	
菌落总数，CFU/g	5	2	10 ⁴	10 ⁵	GB 4789.2
大肠菌群，CFU/g	5	2	10	100	GB 4789.3

注：样品的采样及处理按GB 4789.1和GB 4789.25执行。

3.4.2 直接食用产品应符合表 4 的要求。

表 4 微生物限量

项 目	采样方案及限量（若非指定，均以/25g表示）				检验方法
	n	c	m	M	
菌落总数，CFU/g	5	2	10 ⁴	5×10 ⁴	GB 4789.2
大肠菌群，CFU/g	5	2	10	100	GB 4789.3
霉菌，CFU/g ≤	50				GB 4789.15
沙门氏菌	5	0	0	—	GB 4789.4

注：样品的采样及处理按GB 4789.1和GB 4789.25执行。

3.5 净含量

应符合《定量包装商品计量监督管理办法》的规定，按 JJF1070 规定的方法检测。

4 食品添加剂

食品加工助剂的来源和用量应符合GB 2760的规定，质量应符合本标准3.1的规定。

5 生产加工过程的卫生要求

应符合 GB 14881 的要求。

6 检验规则

6.1 组批

以同一品种、同一生产日期、同一生产班次生产的包装完好的同一品种、同一规格产品为一组批。

6.2 抽样

6.2.1 食品工业原料用产品：每批产品随机抽取 10~12 个完整的包装，在无菌条件下打开包装，每个包装取样 200g~300g 无菌独立包装，为供试验样品，5 个试验样品用于微生物指标检验，余下的用于理化检验和留样。

6.2.2 直接食用产品：每批产品随机抽取 10~12 个完整的包装，5 个试验样品用于微生物指标检验，余下的用于理化检验和留样。

6.3 出厂检验

产品应由企业按本标准检验合格，签发合格证后方可出厂，出厂检验的项目包括感官、净含量、水分、灰分、总氮、菌落总数、大肠菌群。

6.4 型式检验

型式检验是对产品质量进行的全面考核，正常生产时每年进行一次，检验项目包括本标准技术要求中的3.2-3.5规定的项目。有下列情况之一时亦应进行型式检验。

- a) 产品正式投入生产时；
- b) 正式生产后，如原料、工艺有较大变化或更换主要生产设备，可能影响产品质量时；
- c) 出厂检验与上一次型式检验结果有较大差异时；
- d) 长期停产6个月以上，恢复生产时；
- e) 食品安全监督部门提出进行型式检验的要求时。

6.5 判定规则

所检项目检验结果全部符合本标准规定时，判该批产品为合格品。微生物指标不符合本标准要求时，判该批产品为不合格品，不得复检。微生物指标以外的项目检验结果不符合本标准要求时，可以在原批次产品中双倍抽样复检一次，判定以复检结果为准。

7 标签、标志、包装、运输、贮存

7.1 标签、标志

食品工业用产品销售标签应符合 GB 7718 的规定；直接食用的产品销售标签应符合 GB 7718 和 GB 28050 的规定；储运图示的标志应符合 GB/T 191 的规定。

7.2 包装

产品内包装材料为塑料袋或复合铝箔袋，塑料袋应符合GB 4806.7的规定，复合铝箔袋符合GB/T 28118的规定，直接食用产品销售包装应符合GB 23350的要求，。包装规格根据市场需求包装。

7.3 运输

运输工具必须清洁、干燥、无异味、无污染。运输时应防雨、防潮、防曝晒，防挤压、碰撞、冻结。装卸时轻放轻卸，不得与有毒、有害、有异味或其他可能影响产品品质的物品混装、混运。

7.4 贮存

产品应储存于干燥、通风的仓库内，仓库周围应无异气污染，仓库内应保持清洁卫生，有防尘、防蝇、防鼠等设施。不得与有毒、有害、有异味、易挥发、易腐蚀或其他可能影响产品品质的物品同库储存。

8 保质期

在符合本标准规定的条件下，产品保质期按标签标示执行。

附 录 A
(规范性附录)
二肽的检测方法

A.1 方法名称

一种基于串联质谱母离子扫描模式检测胶原蛋白肽中含脯氨酸或羟脯氨酸两种类型特征二肽总含量的液质联用分析方法。

A.2 仪器条件

Agilent 1290 Infinity II超高效液相色谱仪(美国Agilent公司), Agilent 6410三重四级杆质谱仪(美国Agilent公司), Milli-Q超纯水器(美国Millipore公司), Vortex-Genie 2涡旋振荡器(美国Scientific Industries公司); 电子天平(德国Sartorius公司), 超声仪(美国EMERSON公司), 0.22 μm微孔滤膜(尼龙6, Navigator)。

A.3 色谱条件

A.3.1 色谱柱: Atlantis T3 C18色谱柱(15 cm × 2.1 mm, 5 μm)或其它性能相当的色谱柱。

A.3.2 流动相: A相为0.1%甲酸水溶液(V/V), B相为含0.1%甲酸的95%乙腈水溶液。

A.3.3 流速: 0.35 mL/min。

A.3.4 柱温: 40°C。

A.3.5 进样量: 5.00 μL。

A.3.6 洗脱程序: 0~5 min 0%B, 5~10.0 min由0%B线性升至20%B, 10.0~15.0 min由20%B线性升至40%B, 15.0~16.0 min由40%B线性升至80%B, 保持2.0 min, 然后回到初始流动相平衡4.0 min, 准备下一次进样。

A.4 质谱条件

A.4.1 离子源: 电喷雾离子源(正离子扫描);

A.4.2 喷雾电压: 4.0 kV;

A.4.3 干燥气温度: 300°C;

A.4.4 喷雾压力: 40 psi;

A.4.5 干燥气流速: 10 L/分钟;

A.4.6 扫描模式: 母离子扫描(Precursor Scan);

A.4.7 碰撞能: 含羟脯氨酸特征二肽选用10 V~35 V;

A.4.8 特征碎片离子: 含羟脯氨酸类型特征二肽选用 $[C_4H_8NO]^+$ (m/z 86.1);

A.4.9 母离子扫描范围: 含羟脯氨酸类型特征二肽选用186~298 m/z;

A.4.10 含羟脯氨酸类型特征二肽选用Gly-Hyp作为标准品。

A.5 相对分子质量校正曲线制作

配制储备液：分别精确称取上述特征二肽标准品 20mg，分别置于 20ml 容量瓶中，用超纯水溶解，并定容至刻度，摇匀配制成 1.0mg/ml 标准储备液，-18℃环境以下避光、密封保存，保存期 3 个月。

配制混合工作液：准确移取适量标准储备液，用超纯水将各标准储备液配制成浓度为 10μg/mL 的混合液，加水稀释，配制 8 种标准品浓度均为 1.0ng/mL、5.0ng/mL、10.0ng/mL、20.0ng/mL、50.0ng/mL、100.0ng/mL、200.0ng/mL、500.0ng/mL 的系列混合标准溶液，该溶液需现用现配。

A.6 样品制备

分别精确称取市售胶原蛋白肽产品 10.00 mg，精确加入 10 mL 超纯水进行定容，涡旋震荡，充分溶解配制为 1 mg/mL 的样品溶液，稀释样品浓度至 100 ug/mL，使用 0.22 μm 尼龙滤膜进行过滤，将滤液转移至进样小瓶中，用于超高效液相-串联质谱检测；

A.7 样品中含量的计算

将 A.5 制备的样品溶液在 A.3 色谱条件下进样分析，然后使用 MassHunter 数据处理软件，根据外标法制作基质匹配校准曲线对样品的数据进行计算处理，即可得到样品中胶原二肽的相对含量。以标准品浓度 (ng/mL) 为横坐标，以标准品的色谱峰面积为纵坐标，进行构建线性回归方程，绘制标准相关曲线。根据该校准曲线计算市售样品中各类型特征二肽的含量。通常以 3 倍信噪比对应的浓度作为检测限，10 倍信噪比对应的浓度作为定量限。
